

DOI: 10.15690/vramn583

М.А. Сновская¹, А.С. Батырова¹, Л.С. Намазова-Баранова^{1, 2, 3}, А.А. Алексеева^{1, 2},
Е.А. Вишнёва^{1, 2}, О.В. Кожевникова¹, А.А. Марушина¹, В.Н. Лубов¹¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Российская Федерация³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России,
Москва, Российская Федерация

О минимизации затрат на высокоэффективную диагностику аллергии у детей: анализ согласованности результатов аллергологического *in vitro*- и *in vivo*-обследования

Распространенность atopических заболеваний, в том числе высокая значимость пыльцы злаковых трав как сенсibilизирующего агента, определяют актуальность поиска методов аллергодиагностики с целью последующего назначения адекватной терапии. В связи с разработкой нового типа диагностической тест-системы, не требующей дорогостоящего оборудования, актуальными стали изучение наиболее значимых для пациентов аллергенов, исключение дублирующих и малоинформативных тестов. **Цель исследования:** оценить результаты *in vitro*- и *in vivo*-тестирования у детей с разной нозологической формой аллергии, обусловленной пыльцой злаковых трав, и выбрать наиболее значимые прогностические параметры для оптимизации диагностики. **Методы:** в исследование были включены 277 детей в возрасте 4–16 лет с разными нозологическими формами atopической болезни. Пациентам были выполнены кожные тесты и определение содержания IgE к цельным экстрактам аллергенов ежи сборной (g3), овсяницы луговой (g4), тимopheевки луговой (g6). **Результаты:** от 32 до 50% детей в исследуемых группах имеют антитела к аллергенам злаковых трав. Отмечены тесная связь между антителным ответом на изучаемые аллергены, а также количественное совпадение у пациентов содержания IgE-антител к аллергенам g3 и g4, близкое к IgE(g3) и IgE(g4) значение концентрации IgE к g6 ($85,0 \pm 21,6\%$). Анализ результатов кожных тестов показал, что 44% пациентов имеют позитивный ответ на аллергены злаковых трав, и в качественном отношении ответы *in-vivo*-тестов совпадают с результатами серологического тестирования пациентов. Наиболее значимая связь между *in vivo*- и *in vitro*-тестами отмечена между результатами тестирования с цельным экстрактом аллергена овсяницы. **Заключение:** показатель концентрации IgE к аллергенам овсяницы луговой можно использовать в качестве прогностического маркера для определения сенсibilизации пациентов с разной нозологической формой аллергии, обусловленной сенсibilизацией к пыльце злаковых трав, и на основании этого оптимизировать лабораторную аллергодиагностику.

Ключевые слова: аллергический ринит, бронхиальная астма, аллергены трав семейства Злаковые, диагностика.

(Для цитирования: Сновская М.А., Батырова А.С., Намазова-Баранова Л.С., Алексеева А.А., Вишнёва Е.А., Кожевникова О.В., Марушина А.А., Лубов В.Н. О минимизации затрат на высокоэффективную диагностику аллергии у детей: анализ согласованности результатов аллергологического *in vitro*- и *in vivo*-обследования. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 748–755. Doi: 10.15690/vramn583)

Обоснование

По всему миру наблюдается неуклонный рост распространенности различных нозологических форм аллергии, таких как поллиноз и бронхиальная астма, возрастает частота аллергических реакций на пищевые продукты [1]. Среди atopических заболеваний наибольшее распространение имеют аллергический ринит — у 4–30% населения, бронхиальная астма (БА) — у 4–10%; симптомами atopического дерматита наблюдаются почти у 30% российских детей в возрасте 2–3 лет [2]. На долю сезонного аллергического ринита приходится от 1 до 40% случаев, на долю круглогодичного — от 1 до 18% общего числа обследованных [3]. Многие пациенты имеют одновременно несколько нозологических форм atopической болезни [4], при этом число заболевших увеличивается с возрастом [5].

Среди факторов, влияющих на развитие аллергического ринита, аллергического конъюнктивита, БА, значительное влияние оказывают аэроаллергены (бытовые, эпидермальные, пыльцевые) [6]. В исследовании, проведенном Е.И. Козулиной и соавт., было показано, что среди молодого населения (возраст от 18 до 24 лет) за 10 лет увеличилось число пациентов, сенсibilизированных к домашней пыли (44,4%), в том числе к клещам рода *Dermatophagoides pteronissinus* (33,29%) и *Dermatophagoides farinae* (27,7%), шерсти собаки (22,2%) и кошки (27,7%), пыльце деревьев (38,8%), пыльце злаковых (22,2%) и сорных трав (22,2%) [3]. В результате 4-летнего исследования R. Peternel и соавт. [7] показали, что повышенная реактивная чувствительность организма к луговым травам, по данным кожных тестов, встречается у 46,9% взрослых пациентов, имеющих сенсibilизацию к пыльце растений.

В литературе показана роль аллергенов злаковых трав в развитии аллергического риноконъюнктивита и БА [7]. Сравнительно недавно Европейским респираторным сообществом охраны здоровья (European Community Respiratory Health Survey, ECRHS) в крупном эпидемиологическом исследовании была подтверждена первостепенная роль пыльцы злаковых трав в развитии ингаляционной аллергии [8]. Особое внимание требует рассмотрение вопроса перекрестной реактивности IgE-антител, развивающейся на гомологичные (имеющие сходную структуру молекул) аллергены. С развитием молекулярной аллергологии было показано, что пыльца злаковых трав состоит из белков и гликопротеинов,

многие из которых являются сильными аллергенами [9]. На основании высокой внутригрупповой перекрестной реактивности такие аллергены делят на 10 групп. В качестве примера можно выделить аллергены тимотефевки луговой (*Phleum pratense*), экстракты и отдельные компоненты которой (Phl p 1, 2, 5, 6) широко используются в *in vitro*- и *in vivo*-диагностике аллергии на пыльцу злаковых трав, и в специфической иммунотерапии [10], а также аллергены овсяницы луговой (Fes p 1, Fes p 4, Fes p 5, Fes p 13) и ежи сборной (Dac g 1, Dac g 2, Dac g 3, Dac g 4, Dac g 5) [11].

Своевременная точная диагностика заболевания — необходимый этап в постановке правильного диагноза пациенту и назначения адекватного лечения аллергии. В педиатрической практике вопрос стоит еще более остро: раннее выявление сенсибилизирующего агента предотвращает развитие множественной сенсибилизации.

Обследование пациентов с аллергией включает несколько этапов: сбор анамнеза заболевания, выяснение наследственной предрасположенности, в случае подтверждения аллергического характера симптомов проводят лабораторно-инструментальное обследование пациента, цель которого — поиск конкретных аллергенов, ответственных за развитие болезни [12].

Доступными инструментами для диагностики аллергии, в том числе в педиатрии, являются оценка эффективности элиминационных мероприятий, *in vivo*- (кожные тесты) и *in vitro*-тестирование с целью определения уровня циркулирующих в сыворотке крови аллергенспецифических антител IgE [12].

До настоящего времени наибольшее внимание уделяли установлению качественной зависимости между сенсибилизирующей способностью перекрестно-реактивных аллергенов, однако количественной оценки зависимости концентрации антител между близкородственными ал-

лергенами и аллергенами, вызывающими перекрестные аллергические реакции, не проводилось.

Также остается неизученной взаимосвязь между родственными аллергенами растительного происхождения, их влияние на образование специфических IgE-антител, а также роль лабораторной диагностики в установлении степени сенсибилизации пациента к перекрестно-реактивным аллергенам.

Большинство тест-систем, которыми оснащены клинические лаборатории нашей страны, позволяют количественно определять содержание аллергенспецифических IgE; спектр тестов широк, а стоимость их прямо пропорциональна качеству используемых реагентов. Для точной количественной оценки содержания аллергенспецифических IgE-антител необходимо применение дорогостоящих тест-систем. Именно поэтому с увеличением списка аллергенов, «подозреваемых» в качестве триггеров клинических симптомов аллергии, возрастает стоимость исследования [13]. В то же время взятие крови из вены для проведения серологического исследования в педиатрической практике, с одной стороны, является для пациента стрессовой ситуацией, но с другой — не всегда может быть выполнено в полном объеме. Это определяет необходимость поиска эффективных методов диагностики, позволяющих минимизировать количество образцов крови пациента, а также выявления прогностических маркеров, позволяющих количественно оценивать уровень сенсибилизации организма без проведения большого числа аллерготестов.

Цель нашего исследования: оценить результаты *in vitro*- и *in vivo*-тестов у детей с различными нозологическими формами аллергии, обусловленными пылью злаковых трав, и выбрать наиболее значимые прогностические параметры для оптимизации диагностики и минимизации затрат.

M.A. Snovskaya¹, A.S. Batyrova¹, L.S. Namazova-Baranova^{1,2,3}, A.A. Alekseeva^{1,2},
E.A. Vishneva^{1,2}, O.V. Kozhevnikova¹, A.A. Marushina¹, V.N. Lubov¹

¹ Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation

² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

³ The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

About Minimization of Expenses on Allergy Diagnosis in Children: Analysis of Consistency of *in Vitro*- and *in Vivo*-Allergic Examinations Results

High morbidity rate of atopic diseases among children, including high importance of grass pollen as a sensitizing agent, determine the relevance of studies on diagnostic examination systems for appointment of adequate therapy. The research of the most relevant allergens for patients to exclude of duplicating and uninformative tests became urgent after development of a new type of diagnostic tests that does not require expensive equipment.

The objective of this research was to evaluate the results of *in vitro*- and *in vivo*-diagnostic examinations of children with various forms of atopic disease caused by pollen of meadow grasses, and to choose the most significant prognostic parameters for the diagnosis. **Methods:** 277 children aged 4–16 years with various forms of atopic disease were included in the study. There were performed skin prick tests and determination of IgE-antibodies levels to allergen extracts of cocksfoot (g3), meadow fescue (g4), timothy grass (g6). **Results:** In the studied group of patients 32–50% of children have antibodies to grass allergens. There was a close correlation of antibody response on the investigated allergens, quantitative coincidence of IgE-antibodies to g3 and g4 allergens levels. IgE (g6) concentration was close to the IgE(g3) and IgE(g4) levels (85,0±21,6%). Analysis of the skin tests results showed that 44% of patients have a positive response to grass allergens, and *in vivo*-tests results coincide with serological tests results, mostly in a qualitative sense. The most significant relationship was noted between *in vivo* and *in vitro*-tests in the results of testing the response to meadow fescue pollen. **Conclusion:** Based on these data IgE concentration index to meadow fescue allergens can be used as a prognostic marker to determine the sensitization of patients with different nosology forms of allergy and can help to improve allergic diagnostics.

Key words: allergic rhinitis; bronchial asthma; grass allergens; diagnostic.

(For citation) Snovskaya M.A., Batyrova A.S., Namazova-Baranova L.S., Alekseeva A.A., Vishneva E.A., Kozhevnikova O.V., Marushina A.A., Lubov V.N. About Minimization of Expenses on Allergy Diagnosis in Children: Analysis of Consistency of *in Vitro*- and *in Vivo*-Allergic Examinations Results. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 748–755. Doi: 10.15690/vramn583)

Методы

Дизайн исследования

Проведено одномоментное наблюдательное исследование по оценке сопряженности концентраций аллергенспецифических IgE-антител к цельным экстрактам аллергенов трав семейства Злаковые, триба Мятликовые (лат. *Poaceae*) — ежи сборной (g3), овсяницы луговой (g4), тимофеевки луговой (g6), а также сопряженности результатов кожного тестирования к указанным аллергенам у детей с различными нозологическими формами аллергии.

Критерии соответствия

Критерии включения в исследование: дети в возрасте от 4 до 16 лет включительно, имеющие аллергию в анамнезе и сезонный характер клинических симптомов. В исследование включались пациенты с атопической БА вне зависимости от степени тяжести, и/или поллинозом (риноконъюнктивальным синдромом, аллергическим ринитом с сезонным проявлением), и/или атопическим дерматитом вне зависимости от степени тяжести. Законные представители пациентов были проинформированы о процедурах и плане исследования и дали письменное согласие на участие.

750 Условия проведения

Исследование выполнено на базе ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России). Прием пациентов осуществлялся в консультативно-диагностическом центре, лабораторные исследования — в отделе инструментальной диагностики НИИ педиатрии.

Продолжительность исследования

В рамках исследования проанализированы медицинские данные пациентов, наблюдавшихся в ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России с марта по октябрь 2015 г. Исследование образцов крови проводилось однократно.

Описание медицинского вмешательства

У всех пациентов была взята кровь в количестве 5 мл из локтевой вены с помощью системы однократного применения BD Vacutainer Safety-Lok (Becton Dickinson International, США). Кровь набирали в пробирку BD Vacutainer (США) с активатором свертывания и разделительным гелем, центрифугировали в течение 15 мин при 2,5 тыс. оборотов и хранили при +5 °С в течение двух суток до проведения исследования.

Кожное аллергологическое тестирование проводилось методом скарификационных проб с водно-солевыми экстрактами аллергенов трав семейства Злаковые (ежа сборной, овсяница луговая, тимофеевка луговая) компании «Микроген» согласно инструкции компании-производителя пациентам, не имеющим противопоказаний для проведения данного типа исследования.

Исходы исследования

Достижением исхода исследования считалось получение результатов кожного тестирования у наблюдаемых пациентов, определение концентрации аллергенспецифических IgE-антител к аллергенам злаковых трав и получение размера выборки пациентов, достаточной для статистического анализа.

Методы регистрации исходов

Содержание аллергенспецифических антител IgE к аллергенам злаковых трав (ежи сборной, овсяницы луго-

вой, тимофеевки луговой) определяли с помощью непрямого иммунофлюоресцентного метода (анализатор ImmunoCAP250, Thermo Fisher Scientific, ранее Phadia AB, США). Тест считался положительным при концентрации IgE $\geq 0,35$ кЕ/л.

Результаты прик-тестов оценивали по размеру папулы в месте нанесения аллергена: проба считалась положительной при диаметре папулы ≥ 3 мм, сомнительной — при диаметре 2 мм; размер папулы 3 мм соответствовал значению «1+», 4–5 мм — «2+», 6–9 мм — «3+», более 10 мм — «4+».

Этическая экспертиза

В исследование были включены пациенты, проходящие плановое обследование и лечение в различных отделениях ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России. Серологическое тестирование и кожные пробы входили в план обследования пациентов, а результаты обследования были использованы в исследовательских целях с письменного разрешения родителей.

Статистический анализ

Оценку результатов исследования осуществляли с использованием пакета программного обеспечения Statistica v. 8.0 (StatSoft Inc., США) и Excel (Microsoft, США). Для установления прямых связей между изучаемыми признаками по их абсолютным значениям применяли линейный корреляционный и множественный регрессионный анализ. Для оценки значимости различий между выборками использовали критерий Фридмана. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,01$.

Результаты

Участники исследования

Общее количество детей, вошедших в исследование, — 277, из них 121 девочка, 156 мальчиков. Возраст пациентов — от 4 до 16 лет включительно. Для решения поставленной цели было сформировано пять групп пациентов в зависимости от клинических проявлений аллергии:

- группа I: дети с поллинозом — 77;
- группа II: дети с поллинозом и атопическим дерматитом (АтД) — 47;
- группа III: дети с поллинозом и БА — 67;
- группа IV: дети с поллинозом, АтД, БА — 49;
- группа V: дети с БА и АтД — 37.

Всем детям выполнено исследование *in vitro*, а 201 из них также проведено кожное тестирование с аллергенами ежи сборной, овсяницы луговой, тимофеевки луговой. Не проводили кожного тестирования 76 пациентам: 11 — вследствие длительной терапии кортикостероидными препаратами, 43 — из-за обострения аллергического заболевания, 7 — из-за поражения кожного покрова, 15 — в связи с отказом официальных представителей пациента от проведения кожного тестирования.

Основные результаты исследования

Оценка концентрации антител к аллергенам злаковых трав у детей с различными клиническими симптомами аллергии показала, что более чем у 32% пациентов, включенных в исследование, имелись диагностически значимые уровни специфических IgE-антител к аллергенам ежи сборной, овсянице луговой, тимофеевке луговой. При этом не отмечено ни одного случая позитивного ответа одного из тестов при двух других отрицательных.

Таблица 1. Позитивные результаты серологического тестирования пациентов в зависимости от нозологической формы atopической болезни

| Группы пациентов | Всего пациентов, n | Число пациентов с уровнем IgE >0,35 кЕ/л | Позитивный ответ, % |
|-------------------|--------------------|--|---------------------|
| I (П) | 77 | 25 | 32,5 |
| II (П + АтД) | 47 | 21 | 44,7 |
| III (П + БА) | 67 | 28 | 42,0 |
| IV (БА + П + АтД) | 49 | 26 | 53,0 |
| V (БА + АтД) | 37 | 12 | 32,4 |

Примечание. П — поллиноз, АтД — atopический дерматит, БА — бронхиальная астма.

Количество детей, имеющих антитела к травам семейства Злаковые, различалось в изучаемых группах (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что у пациентов с поллинозом, бронхиальной астмой и atopическим дерматитом диагностически значимые уровни IgE-антител к аллергенам злаковых трав встречаются в 32% случаев. В то же время у пациентов с клиническими симптомами поллиноза, бронхиальной астмы и atopическим дерматитом в 50% случаев имеются антитела к аллергенам злаковых трав.

Для оценки взаимосвязи антительного ответа на пыльцевые аллергены родственных злаковых трав были рассчитаны коэффициенты корреляции Пирсона, характеризующие тесноту линейной связи изучаемых параметров (табл. 2).

В каждой изучаемой группе пациентов была выявлена статистически значимая сильная корреляция между значениями концентрации антител IgE к аллергенам ежи сборной, овсяницы луговой, тимофеевке луговой: коэффициент корреляции Пирсона превысил значение 0,96 для всех групп пациентов.

В связи с высокой частотой совместного положительного антительного ответа на аллергены пыльцы злаковых трав нами был применен множественный регрессионный анализ для оценки предиктивной ценности значения концентрации антител IgE к изучаемым растительным аллергенам (табл. 3).

Анализ показал, что значения концентраций специфических IgE-антител к аллергенам изучаемых злаковых трав тесно взаимосвязаны: при росте значения одного из параметров пропорционально возрастает концентрация IgE-антител к прочим изучаемым аллергенам. Коэффициенты детерминации составили не менее 0,92, а остаточное отклонение находилось в диапазоне 0,16–4,35 при уровне значимости $p < 0,0001$ для всех изучаемых аллергенов во всех группах пациентов, что говорит о сильной сопряженности значений концентраций IgE-антител к аллергенам ежи, овсяницы, тимофеевки.

Для количественного сопоставления измеренных показателей (IgE к g3, g4, g6) на одной и той же выборке детей в каждой группе пациентов был применен критерий Фридмана. Было показано отсутствие статистически значимых различий между значениями концентраций IgE-антител к аллергенам ежи сборной и овсяницы луговой ($p > 0,05$), однако концентрация IgE-антител к аллергенам тимофеевки луговой в каждой группе пациентов статистически значимо отличалась от концентрации IgE к g3 и g4 ($p = 0,0002$ и $p = 0,0001$, соответственно) — в среднем 87,3% от уровня IgE к аллергенам ежи сборной и 85,1% от уровня IgE к аллергенам овсяницы. Данные представлены в табл. 4 и на рис. 1.

При оценке результатов кожного тестирования, проведенного с аллергенами трав семейства Злаковые, было показано, что в среднем у $44,3 \pm 17\%$ детей наблюдается

751

Таблица 2. Коэффициенты корреляции между уровнями специфических IgE к пыльцевым аллергенам трав семейства Злаковые (ежи сборной, овсяницы луговой, тимофеевки луговой)

| Группы пациентов | Сравниваемая пара аллергенов* | Коэффициент корреляции Пирсона, r | 95% доверительный интервал для r |
|-------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|
| I (П) | g3–g4 | 0,997 | 0,995–0,998 |
| | g3–g6 | 0,960 | 0,937–0,974 |
| | g4–g6 | 0,973 | 0,957–0,983 |
| II (П + АтД) | g3–g4 | 0,999 | 0,998–0,999 |
| | g3–g6 | 0,967 | 0,941–0,981 |
| | g4–g6 | 0,961 | 0,930–0,978 |
| III (П + БА) | g3–g4 | 0,998 | 0,996–0,999 |
| | g3–g6 | 0,999 | 0,999–1,000 |
| | g4–g6 | 0,999 | 0,997–0,999 |
| IV (БА + П + АтД) | g3–g4 | 0,983 | 0,970–0,990 |
| | g3–g6 | 0,981 | 0,970–0,990 |
| | g4–g6 | 0,949 | 0,911–0,970 |
| V (БА + АтД) | g3–g4 | 0,999 | 0,998–0,999 |
| | g3–g6 | 0,999 | 0,999–1,000 |
| | g4–g6 | 0,999 | 0,999–1,000 |

Примечание. * — уровни значимости (p) для всех рассматриваемых пар аллергенов $< 0,0001$. П — поллиноз, АтД — atopический дерматит, БА — бронхиальная астма.

Таблица 3. Результаты регрессионного анализа: в качестве независимой переменной выступает концентрация IgE(g3) или IgE(g4)

| Группы пациентов | Сравниваемая пара аллергенов* | Коэффициент детерминации, R ² | Остаточное стандартное отклонение |
|-------------------|-------------------------------|--|-----------------------------------|
| I (П) | g4–g3 | 0,994 | 1,15 |
| | g3–g6 | 0,921 | 4,36 |
| | g4–g6 | 0,946 | 3,41 |
| II (П + АтД) | g4–g3 | 0,998 | 0,35 |
| | g3–g6 | 0,935 | 2,17 |
| | g4–g6 | 0,924 | 2,55 |
| III (П + БА) | g4–g3 | 0,997 | 0,73 |
| | g3–g6 | 0,999 | 0,16 |
| | g4–g6 | 0,997 | 0,99 |
| IV (БА + П + АтД) | g4–g3 | 0,967 | 1,47 |
| | g3–g6 | 0,966 | 1,49 |
| | g4–g6 | 0,901 | 2,81 |
| V (БА + АтД) | g4–g3 | 0,998 | 0,37 |
| | g3–g6 | 0,999 | 0,15 |
| | g4–g6 | 0,999 | 0,31 |

Примечание. * — уровни значимости (p) для всех рассматриваемых пар аллергенов <0,0001. П — поллиноз, АтД — атопический дерматит, БА — бронхиальная астма.

752

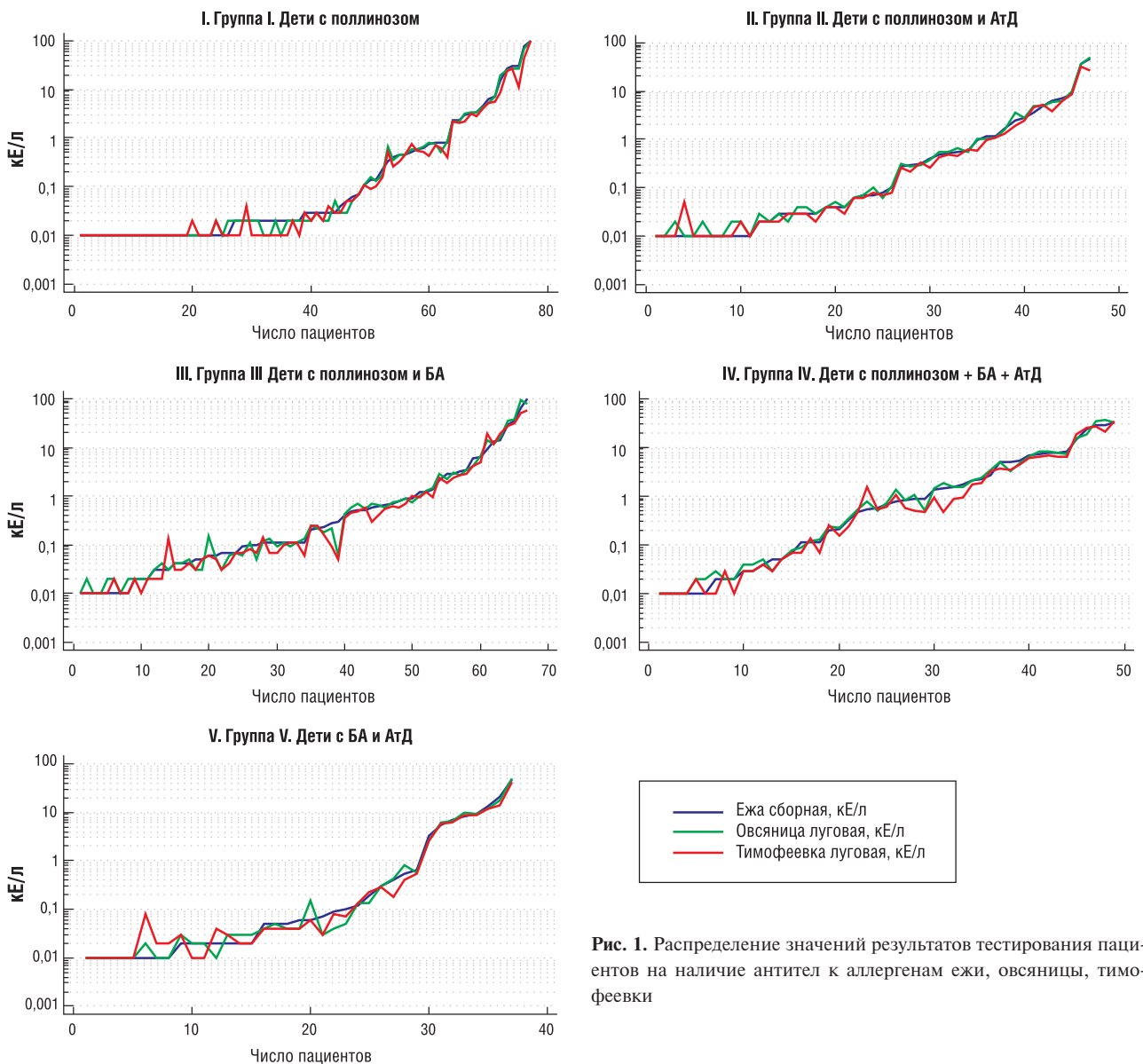


Рис. 1. Распределение значений результатов тестирования пациентов на наличие антител к аллергенам ежи, овсяницы, тимфеевки

Таблица 4. Распределение значений IgE к аллергенам тимофеевки в зависимости от содержания у пациента антител к аллергенам ежи и овсяницы; значений IgE к аллергенам ежи в зависимости от содержания у пациента антител к аллергенам овсяницы

| Группы пациентов | Тимофеевка-Ежа | | Тимофеевка-Овсяница | | Ежа-овсяница | |
|------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|
| | Среднее значение, % | Станд. отклонение, % | Среднее значение, % | Станд. отклонение, % | Среднее значение, % | Станд. отклонение, % |
| I | 85,0 | 21,5 | 84,2 | 22,5 | 101,3 | 16,7 |
| II | 87,3 | 18,5 | 84,4 | 18,0 | 97,3 | 12,5 |
| III | 89,0 | 27,6 | 85,9 | 21,0 | 98,9 | 18,8 |
| IV | 90,3 | 25,8 | 86,0 | 28,8 | 99,8 | 20,8 |
| V | 84,9 | 15,8 | 84,8 | 19,0 | 100,2 | 16,7 |

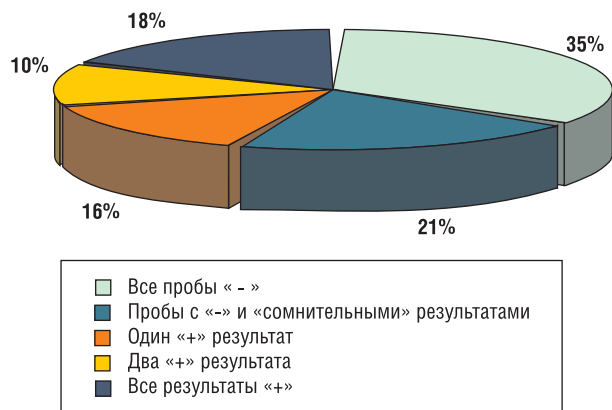


Рис. 2. Распределение результатов кожного тестирования с аллергенами трав семейства Злаковые (ежи сборной, овсяницы луговой, тимофеевки луговой)

положительный ответ (размер папулы ≥ 3 мм) хотя бы на один исследуемый аллерген (рис. 2).

Согласующиеся результаты *in vivo*-тестирования были получены в 74% случаев, из них 35% для отрицательных результатов, 21% — для сомнительных, 18% — для положительных. В 26% случаев наблюдались различные сочетания негативных, сомнительных и позитивных ответов при тестировании пациентов с аллергенами ежи, овсяницы, тимофеевки.

При рассмотрении результатов тестирования пациентов, давших позитивный ответ хотя бы на один исследуемый аллерген, было показано, что в 41,9% случаев имелась положительная реакция на все исследуемые пыльцевые аллергены, а еще у 14,6% детей позитивный ответ на два аллергена сочетался с «подпороговым», или сомнительным, ответом на третий аллерген.

Проведенный корреляционный анализ показал, что для пациентов всех групп имеется статистически значи-

мая сильная и умеренная корреляция между результатами *in vivo*-тестов с аллергенами ежи, овсяницы, тимофеевки. Коэффициент корреляции Пирсона составил $>0,650$ в отношении пар аллергенов ежа-овсяница, $>0,720$ — для пар аллергенов ежа-timoфеевка, $>0,600$ — для пар аллергенов тимофеевка-овсяница при $p < 0,001$.

Выполненный анализ однородности статистических данных с помощью критерия Фридмана показал статистически значимые различия между результатами тестирования пациентов с аллергией к еже, овсянице, тимофеевке ($p = 0,0000$ для всех групп пациентов и аллергенов). Вместе с тем наблюдалась выраженная взаимосвязь появления ответов на родственные аллергены. Взаимосвязь результатов *in vivo*-тестирования, ранжированных от отсутствия реакции до ответа, достигающего уровня «4+», суммарно по всем группам пациентов проиллюстрирована на рис. 3.

Наибольшая величина ответа пациентов наблюдалась на аллергены овсяницы и тимофеевки и, напротив, менее выраженный ответ — на аллергены ежи сборной вне зависимости от нозологической формы atopической болезни.

Дополнительные результаты исследования

Сравнение результатов *in vitro*- и *in vivo*-диагностики сенсибилизации пациентов к аллергенам трав семейства Злаковые показало статистически значимую среднюю и сильную корреляцию между позитивным ответом при кожном тестировании и выявлении диагностически значимого уровня IgE-антител к изучаемым аллергенам. Результат зависел от нозологической формы аллергии, и максимальная взаимосвязь была показана для групп 2 и 3 ($r > 0,750$ и $r > 0,770$ для аллергенов овсяницы и тимофеевки, соответственно, при $p = 0,0001$) и группы 1 ($r > 0,720$ и $r > 0,710$ для аллергенов ежи и овсяницы, соответственно, при $p = 0,0001$). В отношении иных изучаемых групп па-

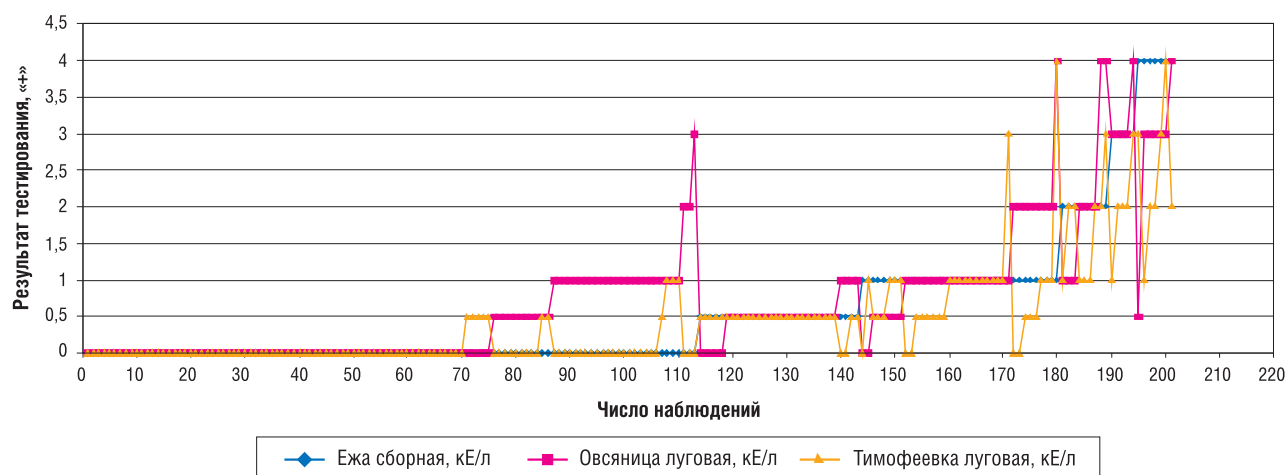


Рис. 3. Результаты проведения кожных тестов пациентам с аллергией к злаковым травам

циентов получена диагностически значимая средняя корреляция между результатами кожного и серологического тестирования ($0,540 < r < 0,690$ при $p < 0,001$). При этом степень позитивного ответа при кожных пробах имела корреляцию средней силы с уровнем IgE-антител к изучаемым аллергенам ($0,44 < r < 0,67$ при $p < 0,0001$).

Нежелательные явления

Нежелательные явления отсутствовали.

Обсуждение

Результаты *in vitro*- и *in vivo*-диагностики аллергии, полученные в нашей работе, имели сходные качественные результаты для пациентов с различными нозологическими формами аллергии. В среднем 41% пациентов имели IgE антитела к исследуемым аллергенам и 44% — положительные кожные пробы. Полученные нами результаты распространенности сенсибилизации пациентов к аллергенам злаковых трав, а также частота выявления диагностически значимого уровня IgE-антител к исследуемым аллергенам согласуются с данными А. Navarro, который показал, что к пыльце растений сенсибилизировано не менее 51% пациентов с аллергическим ринитом и не менее 43% с бронхиальной астмой [14]. В работе С. Capova, описывающей масштабное исследование по распространенности сенсибилизации к злаковым травам, также показано, что в Северной Европе от 28 до 49% пациентов с бронхиальной астмой в зависимости от региона исследования имеют положительные результаты кожного тестирования и уровень аллергенспецифических IgE, превышающий пороговую границу 0,35 кЕ/л [8].

Наше исследование показало наличие единых тенденций при оценке содержания IgE-антител к различным аллергенам трав семейства Злаковые у пациентов с различными нозологическими формами аллергии. Сопряженность образования IgE к аллергенам трав семейства Злаковые может быть объяснена сходством белковых молекул, входящих в состав аллергенных экстрактов различных растений, принадлежащих одному семейству [16]. Благодаря появлению молекулярной аллергологии стало известно, что цельный экстракт пыльцевых аллергенов, например тимофеевки луговой, содержит более 28 белков, 15 из которых являются аллергенами. Один из главных аллергенов тимофеевки — белок Phl p 1 — участвует в развитии перекрестных аллергических реакций с родственными растениями вследствие его гомологичности с главным аллергеном ежи сборной Das g 1 [17] и главным аллергеном овсяницы луговой Fes p 1 [16]. Антитела IgE к Phl p 1 обнаруживаются у 95% пациентов, сенсибилизированных к злаковым травам [18].

В связи с тем, что при рутинной алергодиагностике как *in vivo*, так и *in vitro* применяются цельные экстракты аллергенов, сходная реакция развивается на гомологичные аллергенные молекулы, имеющиеся как в экстракте ежи сборной, овсяницы луговой, так и тимофеевки луговой. Таким образом, используя любой цельный экстракт злаковых трав для диагностики, мы получаем инструмент для полуколичественной оценки уровня IgE-антител к родственным аллергенам, а также для качественной оценки наличия у пациента сенсибилизации.

Выводы

Оценивая результаты данного исследования, необходимо подчеркнуть следующие моменты. Полученные

нами не только качественные, но и количественные совпадения результатов серологического тестирования у детей с различными нозологическими формами аллергии позволили рассмотреть тесты по определению специфических IgE-антител к аллергенам ежи, овсяницы, тимофеевки как взаимозаменяемые. На основании полученной зависимости в случае выявления положительного ответа на один из изучаемых аллергенов, к примеру овсяницы, следует ожидать положительный ответ на аллергены тимофеевки и ежи. При этом концентрация антител к аллергенам тимофеевки и аллергенам ежи в зависимости от концентрации антител к аллергенам овсяницы составляет $85,0 \pm 21,8$ и $99,5 \pm 17,1\%$, соответственно.

Количественному совпадению результатов *in vitro*-тестирования ранее не уделялось достаточного внимания, однако совпадение результатов кожного алергологического тестирования отражено в литературе [7, 8] и согласуется с результатами, полученными в нашем исследовании.

При рассмотрении результатов *in vivo*-тестов, сопоставляемых с результатами определения аллергенспецифических IgE, отмечено, что позитивный ответ на аллергены овсяницы был выше по сравнению с ответом пациентов на аллергены ежи и тимофеевки. Кроме того, значение концентрации IgE-антител к аллергенам овсяницы наиболее тесно коррелировало с результатами кожного тестирования. Выявленный факт позволил определить данный параметр как прогностический в отношении сенсибилизации пациента к злаковым травам.

Полученные нами данные позволяют аргументированно использовать единый маркерный показатель — концентрацию специфических IgE-антител к цельному экстракту аллергенов овсяницы луговой — для диагностики сенсибилизации пациентов к пыльце трав семейства Злаковые. Применение в лабораторной диагностике ограниченного набора алерготестов позволяет уменьшить объем исследования и, как следствие, его стоимость.

Заключение

Исследование показало, что концентрации IgE-антител к аллергенам трав семейства Злаковые (timoфеевки, овсяницы, ежи) взаимосвязаны, имеют линейную зависимость, обладают высокой прогностической ценностью. Значение концентрации антител к аллергенам овсяницы наиболее тесно коррелирует с результатом кожного тестирования. Полученные результаты определяют концентрацию антител IgE к аллергенам пыльцы овсяницы как прогностический параметр сенсибилизации пациентов к аллергенам злаковых трав и позволяют предложить новый подход в диагностике аллергии.

Источник финансирования

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации в рамках соглашения №14.607.21.0017 о предоставлении субсидии (уникальный идентификатор прикладных научных исследований RFMEFI60714X0017).

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Намазова-Баранова ЛС. Аллергия у детей: от теории – к практике. М.: *Союз педиатров России*. 2011. 668 с.
2. Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В., Мешкова Р.Я. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник. М.: *ГЭОТАР-Медиа*. 2011. 640 с.
3. Козулина ИЕ, Курбачева ОМ, Ильина НИ. Аллергия сегодня. Анализ новых эпидемиологических данных. *Российский аллергологический журнал*. 2014;3:3–10.
4. Bartra J, Sastre J, del Cuvillo A, Montoro J, Jauregui I, Davila I, et al. From pollinosis to digestive allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2009;19 (Suppl 1):3–10.
5. Bousquet J, Gern JE, Martinez FD, Anto JM, Johnson CC, Holt PG, et al. Birth cohorts in asthma and allergic diseases: report of a NIAID/NHLBI/MeDALL joint workshop. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(6):1535–1546. doi: 10.1016/j.jaci.2014.01.018.
6. Лопатин АС, Чучуева НД. Эпидемиология аллергического ринита в России и в мире. *Российский аллергологический журнал*. 2013;2:3–11.
7. Peternel R, Toth I, Hercog P, Vojnikovic B, Cop R, Bradic-Hammoud M. Influence of aeroallergens on the incidence of conjunctivitis in Zagreb and Zagreb County. *Coll Antropol*. 2013;37 (Suppl 1):13–17.
8. Canova C, Heinrich J, Anto JM, Leynaert B, Smith M, Kuenzli N, et al. The influence of sensitisation to pollens and moulds on seasonal variations in asthma attacks. *Eur Respir J*. 2013;42(4):935–945. doi: 10.1183/09031936.00097412.
9. Schenk S, Breiteneder H, Susani M, Najafian N, Laffer S, Duchene M, et al. T cell epitopes of Phl p 1, major pollen allergen of timothy grass (*Phleum pratense*). Crossreactivity with group I allergens of different grasses. *Adv Exp Med Biol*. 1996;409:141–146. doi: 10.1007/978-1-4615-5855-2_19
10. Gangl K, Niederberger V, Valenta R. Multiple grass mixes as opposed to single grasses for allergen immunotherapy in allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2013;43(11):1202–1216. doi: 10.1111/cea.12128.
11. Yman L. Pharmacia: Allergenic Plants. Systematics of common and rare allergens. Version 1.0. CD-ROM. *Uppsala, Sweden: Pharmacia Diagnostics*, 2000.
12. Хаитов РМ. Клиническая аллергология: руководство для практических врачей. М.: *МЕДПресс-информ*. 2002. 624 с.
13. Павлова КС, Курбачева ОМ. Клинико-экономический анализ терапии больных аллергическим ринитом и атопической бронхиальной астмой с наличием бытовой сенсibilизации. *Российский аллергологический журнал*. 2006;3:22–27.
14. Navarro AR. Rinitis. En: SEAIC & Schering-Plough editores. *Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en*. 2005:107–131.
15. Canova C, Heinrich J, Anto JM, Leynaert B, Smith M, Kuenzli N, et al. The influence of sensitisation to pollens and moulds on seasonal variations in asthma attacks. *Eur Respir J*. 2013;42(4):935–945. doi: 10.1183/09031936.00097412.
16. Grobe K, Becker WM, Schlaak M, Petersen A. Grass group I allergens (beta-expansins) are novel, papain-related proteinases. *Eur J Biochem*. 1999;263(1):33–40. doi: 10.1046/j.1432-1327.1999.00462.x.
17. Focke M, Mahler V, Ball T, Sperr WR, Majlesi Y, Valent P, et al. Nonanaphylactic synthetic peptides derived from B cell epitopes of the major grass pollen allergen, Phl p 1, for allergy vaccination. *FASEB J*. 2001;15(11):2042–2044. doi: 10.1096/fj.01-0016fje.
18. Sliwa-Tomczok W, Tomczok J, Dosch IM, Becker WM, Behrendt H. Immunomicroscopic identification of major allergens in pollen of cat's tail grass (*Phleum pratense* L.). *Pneumologie*. 2001;55(5):224–225. doi: 10.1055/s-2001-13944.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Сновская Марина Андреевна, врач отдела инструментальной диагностики НИИ педиатрии ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: snows@inbox.ru

Батырова Анна Сергеевна, врач отдела инструментальной диагностики НИИ педиатрии ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: melograno8@yandex.ru

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ педиатрии ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: namazova@nczd.ru

Алексеева Анна Александровна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением ОВЛД с аллергическими болезнями и заболеваниями органов дыхания

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: aleksaa06@yandex.ru

Вишнёва Елена Александровна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения ОВЛД с аллергическими болезнями и заболеваниями органов дыхания, исполняющая обязанности заведующей отделом стандартизации и клинической фармакологии

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: vishneva@nczd.ru

Кожевникова Ольга Викторовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделом инструментальной диагностики НИИ педиатрии ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: fd@nczd.ru

Марушина Анастасия Александровна, врач отдела инструментальной диагностики НИИ педиатрии ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: jasnoe@mail.ru

Лубов Василий Николаевич, клинический ординатор ФГБУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: lubov.vasily@yandex.ru